

PERBANDINGAN DOSIS EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) DALAM MEMPERBAIKI NEKROSA SEL BETA PANKREAS PADA TIKUS HIPERGLIKEMIK DI LABORATORIUM

Qurratu Aini¹⁾, Mustafa Sabri²⁾ dan Samingan³⁾

¹⁾Jurusan Tadris Biologi Fakultas Tarbiyah Universitas Muhammadiyah Aceh

²⁾Jurusan Anatomi, Fisiologi, dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Unsyiah Banda Aceh

³⁾Jurusan Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Unsyiah Banda Aceh

ABSTRAK

Pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) pada dosis yang berbeda dapat memperbaiki kerusakan sel pankreas pada tikus yang diinduksi aloksan (hiperglikemik). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbandingan dosis ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) dalam memperbaiki nekrosa sel pankreas pada tikus hiperglikemik. Pelaksanaan penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi dan Farmakologi Jurusan Klinik Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala. Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap yang terdiri atas empat perlakuan dan lima ulangan. Perlakuan A = Kontrol negatif (diberi akuades dan NaCl fisiologis), B = Kontrol positif (75 mg/kg BB aloksan dan diinkubasi selama 21 hari), C (75 mg/kg BB aloksan dan 150 mg/kg BB ekstrak daun kelor selama 21 hari), dan D (75 mg/kg BB aloksan dan 450 mg/kg BB ekstrak daun kelor selama 21 hari). Parameter yang diamati adalah nekrosa sel pankreas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) pada dosis 450 mg/kg BB selama 21 hari dapat memperbaiki nekrosa sel pankreas lebih cepat dibandingkan dengan pemberian ekstrak daun kelor pada dosis 150 mg/kg BB selama 21 hari.

Kata Kunci: *Moringa oleifera*, Hiperglikemik, Nekrosa Sel .

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki persentase tertinggi penderita Diabetes mellitus, salah satunya adalah propinsi Aceh. Diabetes mellitus merupakan suatu penyakit kronis yang menimbulkan gangguan multisistem dan mempunyai karakteristik hiperglikemia (Dewi dkk., 2014). Peningkatan kadar glukosa dalam darah menyebabkan dehidrasi sel-sel jaringan. Hal ini terjadi karena sebagian glukosa tidak dapat dengan mudah berdifusi melewati membran sel, dan naiknya tekanan osmotik dalam cairan ekstraselular menyebabkan timbulnya perpindahan osmotik air keluar dari sel. Selain efek dehidrasi selular langsung akibat glukosa yang berlebihan, keluarnya glukosa ke dalam urin akan menimbulkan keadaan diuresis osmotik (Guyton dan Hall, 1997).

Jumlah kasus diabetes di dunia mengalami peningkatan secara signifikan pada sepuluh tahun belakangan ini dan merupakan penyebab

kematian keenam di seluruh dunia. Jumlah kasus tersebut diperkirakan akan meningkat dari 135 juta pada tahun 1995 menjadi 380 juta pada tahun 2025. Jumlah terbesar dari peningkatan angka ini terjadi di negara berkembang, salah satunya Indonesia (Nwankwo et al., 2010).

Pengobatan diabetes mellitus yang dilakukan selama ini adalah dengan menggunakan obat-obat antidiabetikum. Selanjutnya pengobatan beralih menggunakan injeksi insulin (insulin sintetis) terutama pada golongan masyarakat menengah ke atas, dan hal ini tidak disukai oleh penderita diabetes mellitus. Insulin merupakan hormon yang berperan dalam mengatur konsentrasi glukosa dalam darah. Hormon ini disekresikan oleh sel pulau langerhans pankreas. Insulin merangsang transpor glukosa dan merangsang metabolisme pada banyak jaringan sasaran, kebanyakan di hati dan jaringan lemak, dan merangsang sintesis glikogen, sehingga menurunkan kadar

glukosa darah (Johnson, 2011). Peningkatan kadar glukosa darah dapat terjadi bila produksi insulin menurun. Produksi insulin dapat menurun apabila sel pankreas rusak akibat konsumsi glukosa berlebihan dalam waktu lama atau pemberian zat toksik seperti aloksan, dimana aloksan merupakan diabetogenik yang dapat menimbulkan hiperglikemia permanen dalam waktu dua sampai tiga hari (Turner & Bagnara, 1976 dan Suharmiati, 2003).

Dewasa ini, kalangan menengah ke bawah menggunakan obat alternatif dalam mengobati diabetes mellitus. Salah satu obat tradisional yang dapat mengobati diabetes mellitus dan keberadaannya paling banyak ditemukan di Aceh adalah tanaman kelor yang dikenal dengan sebutan Murong (*Moringa oleifera*) (Litbang, 2011). Menurut Fahey (2005) tanaman kelor memiliki kandungan fitokimia berupa 4-(4'-*o*-asetyl- -L-rhamnopyranosyloxy) benzyl isothiocyanate, 4-(*-*-rhamnopyranosyloxy) benzyl isothiocyanate, niazimicin, pterygospermin, benzyl isothipcyanate, dan 4-(*-*-L-rhamnopyranosyloxy) benzyl glucosinolates., Kandungan tersebut berperan sebagai antikanker, antibakteri dan hipotensi. Selain itu juga dapat menurunkan kondisi hiperglikemik secara bertahap, dan berperan sebagai antioksidan dan antidiabetik (Gupta et.al., 2012).

Hasil penelitian sebelumnya Gupta et al., (2012) menyatakan bahwa terdapat dua kandungan metabolit sekunder pada ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) yaitu quercetin dan koempferol yang dapat mempertahankan sel pankreas dari kerusakan, dan dapat meningkatkan pertahanan sel serta meminimalkan hiperglikemia yang dapat menginduksi diabetes mellitus. Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian mengenai perbandingan dosis ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) dalam memperbaiki nekrosa sel pankreas pada tikus hiperglikemik di laboratorium. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbandingan dosis ekstrak daun kelor yang berbeda dalam memperbaiki sel pankreas pada tikus

hiperglikemik. Penelitian ini diharapkan memberikan informasi mengenai pengaruh pemberian dosis ekstrak daun kelor yang tepat dalam memperbaiki sel pankreas pada tikus hiperglikemik.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen untuk mengetahui dosis ekstrak daun kelor dalam memperbaiki nekrosa sel pankreas pada tikus hiperglikemik. Bahan yang digunakan adalah daun kelor (*Moringa oleifera*) berasal dari perkebunan desa Teu Dayah, Kecamatan Kuta Malaka-Aceh Besar. Daun kelor yang telah dikering anginkan kemudian dihaluskan sebanyak 3 kg, dicampurkan ke dalam 75 % etanol selama 72 jam. Hasil daun kelor yang telah dihaluskan dievaporasi pada temperatur $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 48 jam. Kemudian diperoleh residu bersih sebanyak 25,7 g yang disimpan pada suhu -4°C , ini merupakan ekstraksi cair. Pemberian ekstrak daun kelor dengan dosis yang berbeda yaitu 150 mg/kg BB dan 450 mg/kg BB.

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan 25 ekor tikus (*Rattus wistar*) jantan berumur tiga bulan dengan berat badan 200 – 250 gram. Tikus diperoleh dari kandang pemeliharaan Laboratorium Patologi Jurusan Klinik Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala. Tikus diaklimatisasi selama 7 hari dikandang percobaan, kandang terbuat dari bak plastik dengan ukuran 70 cm x 44 cm x 20 cm dengan bagian atasnya ditutupi jaring kawat dan bagian bawahnya dialasi sekam dengan ketebalan 3 cm. Hewan coba diberikan makanan berupa pellet jenis 789-S, makan dan minum disediakan secara adlibitum.

Pemberian aloksan dilakukan satu kali pada hari pertama perlakuan secara intraperitoneal dengan dosis 75 mg/kg bb selama empat hari mengacu pada Fauziah (2000). Pemberian ekstrak daun kelor dilakukan secara oral (intubasi oesophagus) selama 21 hari untuk semua perlakuan. Tikus dinekropsi satu hari setelah perlakuan berakhir. Setelah dinekropsi,

organ pankreas segera diambil dan selanjutnya dibuat sediaan histologis dengan menggunakan metode parafin. Spesimen pankreas difiksasi dalam larutan Bouin, kemudian didehidrasi menggunakan alkohol seri 70 % sampai dengan alkohol absolut, kliring dalam xilol, infiltrasi dan embedding dalam blok parafin 56–58 0C. Sediaan yang telah di embedding disayat dengan ketebalan 6 mikron menggunakan mikrotom putar. Setiap ulangan di buat 4 sayatan dengan interval 10 sayatan dan diletakkan pada kaca benda yang telah diberi larutan perekat.

Pewarnaan nekrosa pada sel pankreas tikus diwarnai dengan metode pewarnaan Gomori’s Chromium Hematoxylin Phloxin yang mengacu pada Gridley (1960). Selanjutnya, pengamatan nekrosa pada sel pankreas dilakukan dengan mikroskop cahaya pada pembesaran 10 x 40. Setiap sayatan diamati

sebanyak 3 lapangan pandang, sehingga pada setiap ulangan terdapat 12 lapangan pandang pengamatan.

Analisis menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), apabila terdapat perbedaan pengaruh perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan pada selang kepercayaan 5% (Gomez dan Gomez, 1995).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada perlakuan C dengan pemberian dosis ekstrak daun kelor 150 mg/kg BB menunjukkan adanya penurunan nekrosa sel pankreas mencapai 0,55. Sedangkan pada perlakuan D dengan pemberian dosis ekstrak daun kelor 450 mg/kg BB terjadi penurunan nekrosa secara signifikan yaitu 0,41. Rata-rata nekrosa sel pankreas tikus pada berbagai perlakuan dapat di lihat pada Tabel 1.

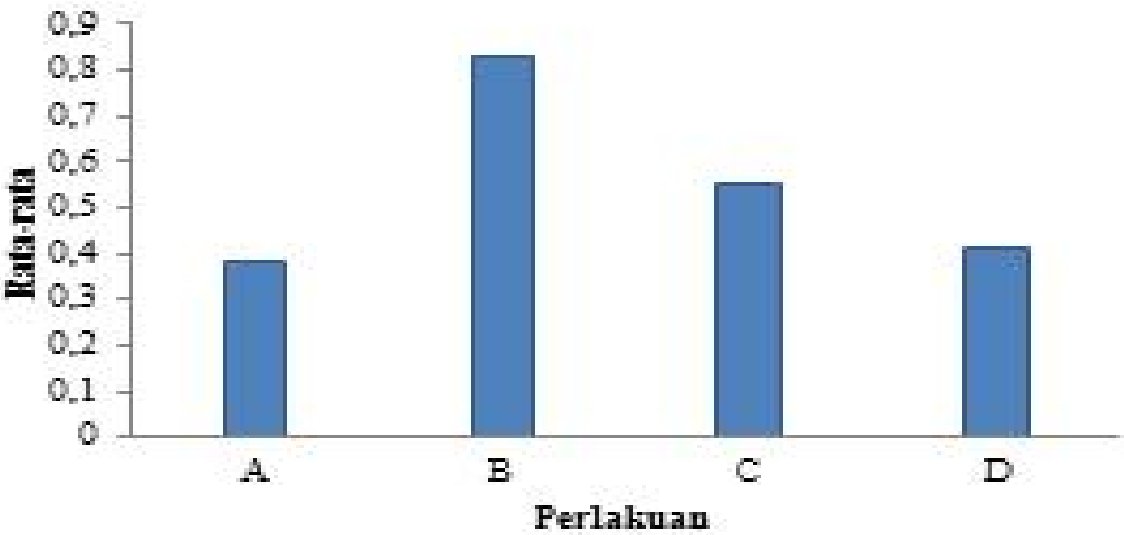
Tabel 1. Rerata Nekrosa Sel Pankreas Tikus pada Berbagai Perlakuan.

Perlakuan	Rerata nekrosa sel pankreas (X ± SD)
A. Akuades + NaCl fisiologis	0,38 ± 0,08 ^{Aa}
B. 75 mg/kg BB aloksan dan diinkubasi selama 21 hari	0,83 ± 0,09 ^{Dd}
C. 150 mg/kg BB ekstrak daun kelor + 75 mg/kg BB aloksan selama 21 hari	0,55 ± 0,16 ^{Cc}
D. 450 mg/kg BB ekstrak daun kelor + 75 mg/kg BB aloksan selama 21 hari	0,41 ± 0,08 ^{Aab}

Keterangan : Superskrip huruf kapital yang berbeda (A,B,C,D) menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (P<0.01) ; huruf kecil (a,b,c,d) menunjukkan berbeda nyata (P<0.05) ; huruf kecil yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (P>0.05).

Sel pankreas tikus yang mengalami nekrosa pada berbagai perlakuan dapat di lihat pada Gambar 1. Analisis varian terhadap

nekrosa sel pankreas tikus perlakuan menunjukkan adanya pengaruh perlakuan yang berbeda sangat nyata (P<0.01).



Gambar 1. Rerata Proporsi Nekrosa Sel Pankreas pada Berbagai Perlakuan

Keterangan :

A = Kontrol negatif (diberi akuades dan NaCl fisiologis)

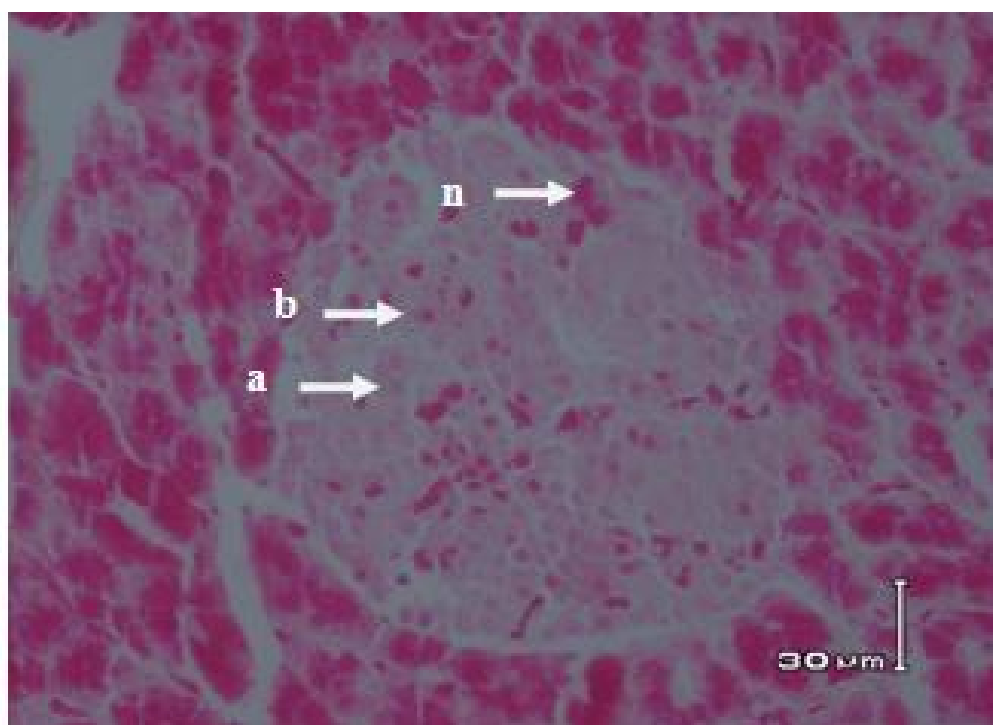
B = Kontrol positif (75 mg/kg BB aloksan dan diinkubasi selama 21 hari)

C = 75 mg/kg BB aloksan dan 150 mg/kg BB ekstrak daun kelor selama 21 hari

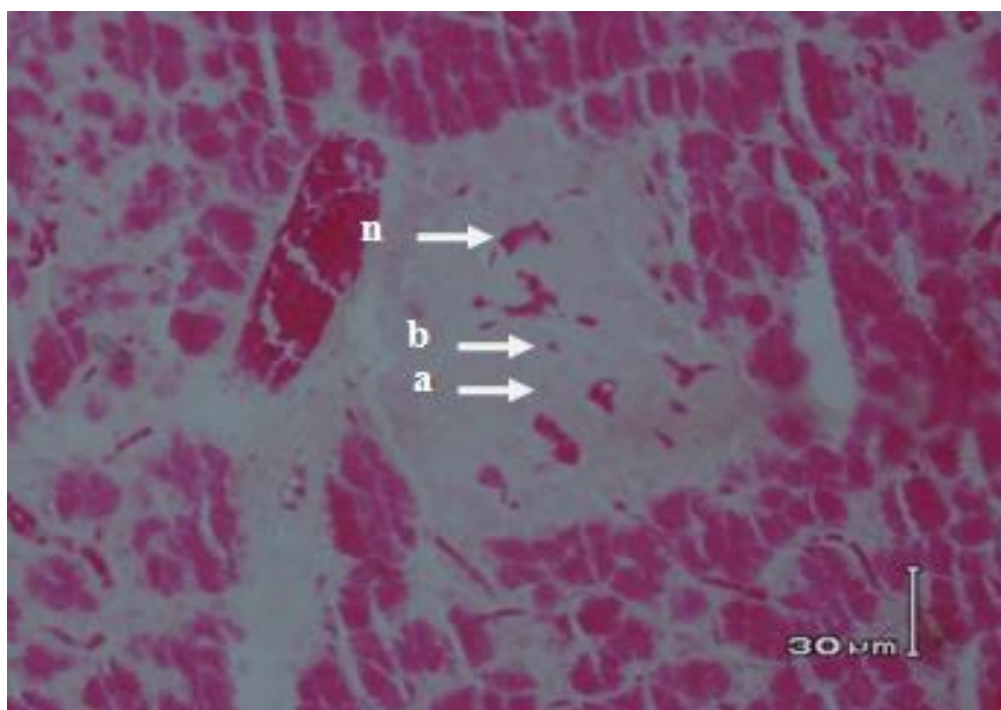
D = 75 mg/kg BB aloksan dan 450 mg/kg BB ekstrak daun kelor selama 21 hari

Rerata nekrosa sel pankreas pada perlakuan B (kontrol positif) yang diinduksi aloksan dan diinkubasi selama 21 hari yaitu 0,83 berbeda sangat nyata dengan perlakuan A yaitu 0,38. Rerata nekrosa pada perlakuan B lebih banyak dibandingkan nekrosa pada perlakuan A (normal) seperti terlihat pada Gambar 2 dan 3. Pada Gambar 3. (kontrol positif) terlihat banyak terdapat sel yang mengalami nekrosa

dibandingkan dengan sel beta pankreas normal, yang ditandai dengan pecahnya inti sel, sel mengalami pignosis (pengecilan), dan menghilangnya inti sel. Selanjutnya pada gambar tersebut juga terlihat berkurangnya penyerapan zat warna Gomori's Chromium Hematoxylin Phloxin, sehingga pewarnaan tampak lebih pucat, hal ini diduga karena adanya paparan aloksan yang merusak pankreas.



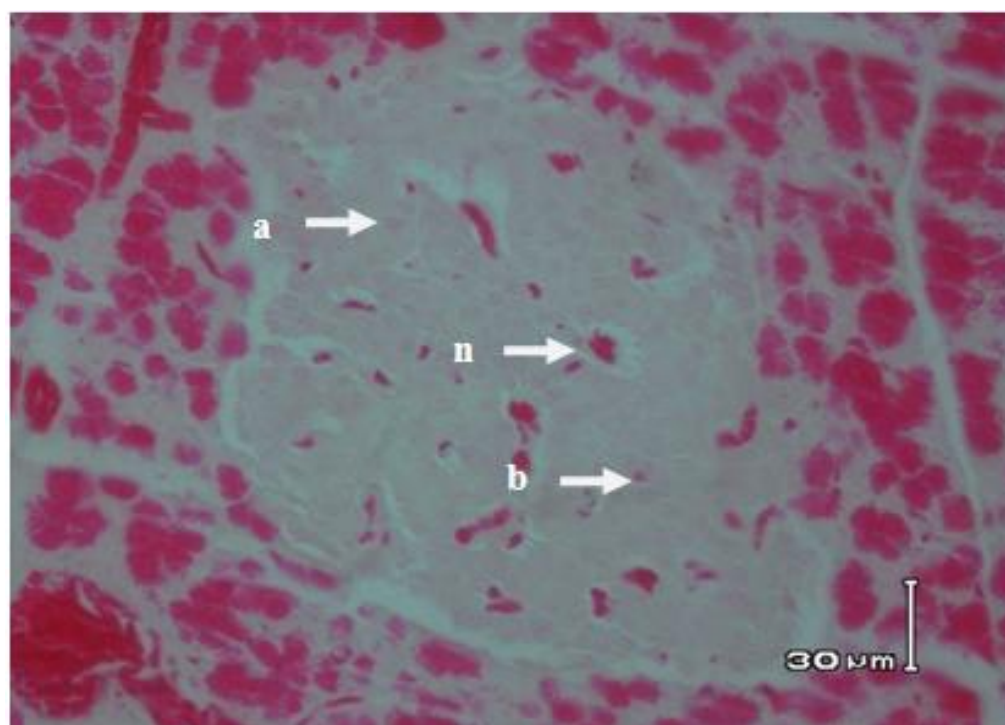
Gambar 2. Nekrosa Sel Pankreas pada Perlakuan A ; a = sel alpha pankreas normal, b = sel beta pankreas normal, dan n = sel beta pankreas yang mengalami nekrosa, (Pewarnaan Gomori's Chromium Hematoxylin Phloxin, Pembesaran 400x)



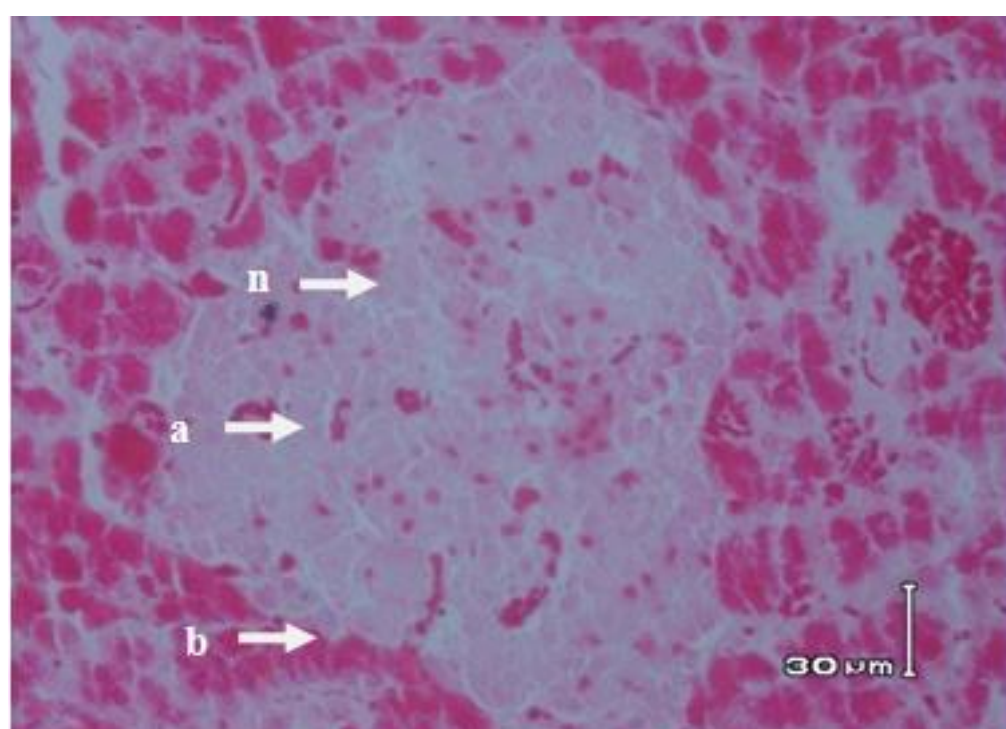
Gambar 3. Nekrosa Sel Pankreas pada Perlakuan B ; a = sel alpha pankreas normal, b = sel beta pankreas normal, dan n = sel beta pankreas yang mengalami nekrosa, (Pewarnaan Gomori's Chromium Hematoxylin Phloxin, Pembesaran 400x).

Kondisi ini sangat berbeda dengan pulau langerhans yang terdapat pada Gambar 2. (kontrol negatif), sel beta pankreas normal terlihat lebih banyak dan penyerapan zat warna Gomori's Chromium Hematoxylin Phloxin lebih maksimal sehingga warnanya cerah. Pada perlakuan B (kontrol positif) menunjukkan bahwa terjadinya kerusakan sel pankreas yang disebabkan karena induksi aloksan, yang mampu merusak DNA sel tersebut sehingga terganggunya sekresi insulin.

Rerata nekrosa pada perlakuan C dan D masing-masing yaitu 0,55 dan 0,41. Perlakuan B (kontrol positif) berbeda sangat nyata dengan perlakuan C, dan D ($P < 0,01$). Induksi aloksan dan diiringi dengan pemberian ekstrak daun kelor pada perlakuan C dan D dengan dosis yang berbeda selama 21 hari, mampu memperbaiki nekrosa pada sel pankreas seperti terlihat pada Gambar 4. dan 5.



Gambar 4. Nekrosa Sel Pankreas pada Perlakuan C ; a = sel alpha pankreas normal, b = sel beta pankreas normal, dan n = sel beta pankreas yang mengalami nekrosa, (Pewarnaan Gomori's Chromium Hematoxylin Phloxin, Pembesaran 400x).



Gambar 5. Nekrosa sel Pankreas pada Perlakuan D ; a = sel alpha pankreas normal, b = sel beta pankreas normal, dan n = sel beta pankreas yang mengalami nekrosa, (Pewarnaan Gomori's Chromium Hematoxylin Phloxin, Pembesaran 400x).

Terutama pada perlakuan D, terjadi penurunan nekrosa sel pankreas yang sangat signifikan dan hampir sama dengan nekrosa pada perlakuan A (normal). Penurunan nekrosa sel pankreas ini diduga karena antihiperglikemik dan antioksidan pada ekstrak daun kelor yang berpotensi menetralkan sifat radikal bebas dari aloksan. Hal ini sejalan dengan penelitian Edoga et al., (2013) yang menyatakan bahwa aloksan monohidrat dapat merusak sel beta pankreas, dan ekstrak daun kelor mampu menurunkan kadar glukosa darah pada tikus yang diinduksi aloksan, indikasi ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki efek pankreatik tambahan.

Aktifitas hipoglikemik dan antihiperglikemik dari ekstrak daun kelor dimungkinkan karena keberadaan terpenoid, yang terlibat dalam stimulasi sel-sel beta pankreas dan mampu mensekresikan insulin (Manohar et al., 2012). Menurut Tende et al., (2011) mengungkapkan bahwa penyaringan fitokimia dari ekstrak daun kelor terdapat beberapa kandungan kimia berupa flavonoid, tannin, anthraquinon, glikosida termasuk

alkaloid, triterpenoid, saponin, dan mereduksi gula.

Faktor lain yang diduga mempengaruhi penurunan rerata nekrosa sel pankreas dan kadar glukosa darah terutama pada perlakuan D adalah terjadinya efek yang sinergis antara kandungan bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak daun kelor dengan kemampuan regenerasi sel. Kondisi ini diduga karena adanya keterbatasan aloksan dalam merusak sel pankreas. Hal ini sejalan dengan Takasawa et al., (2005) yang menyatakan bahwa sel pankreas mempunyai faktor regenerasi autokrin/parakrin berupa protein Regenerating gen (Reg) sehingga memiliki kemampuan regenerasi sel, sel yang tidak rusak akan mengalami pembelahan.

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) pada dosis 450 mg/kg BB selama 21 hari dapat memperbaiki nekrosa sel pankreas lebih lebih cepat dibandingkan dengan pemberian ekstrak daun kelor pada dosis 150 mg/kg BB selama 21 hari.

DAFTAR PUSTAKA

- Dewi, Y. F., Made, S. A dan A. A. Gde. O. D. 2014. Efektifitas Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus*) yang di Induksi Aloksan. Buletin Veteriner Udayana. Vol. 6 No. 1.
- Edoga, C. O., Njoku O. O., Amadi, E. N., and Okeke J. J. 2013. Blood Sugar Lowering Effect of *Moringa oleifera* Lam in Albino Rats. International Journal of Science and Technology. Volume 3. No. 1.
- Fahey, J. W. 2005. *Moringa oleifera* : A Review of the Medical Evidence for Its Nutritional, Therapeutic, and Prophylactic Properties. Part 1. Trees for Life Journal 1:5.
- Fauziah. 2005. Aktivitas Antidiabetik Daun Lidah Buaya (*Aloe vera*) pada Tikus Putih (*Rattus wistar*) jantan. Tersedia pada <http://digilib.bi.itb.ac.id/go.php?id=jbptitb-bigdl-s2-200-fauziah>
- 1121&node=158&start=11. Diakses pada tanggal 9 Mei 2013.
- Gomez, K. A. dan A. A. Gomez. 1995. Prosedur Statistik Untuk Penelitian. Jakarta:UI Press.
- Gridley, W. F. 1960. Manual of Special Staining Technic. 2nd Ed. London:Mc. Graw Hill Book Company Inc.
- Gupta, R., Manas, M., Vijay, K. B., Pawan, K., Sunita, Y., Raka, K., and Radhey, S. G. 2012. Evaluation of Antidiabetic and Antioxidant Activity of *Moringa oleifera* in experimental diabetes. Journal of Diabetic 4:164-171.
- Guyton, A. C. dan J. E. Hall. 1997. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Diterjemahkan dari Textbook of Medical Physiology 9th Ed. oleh I. Setiawan, K. A. Tengadi dan A. Santoso. Jakarta:EGC.
- Johnson, K. E. 2011. Histologi dan Biologi Sel. Tangerang Selatan:Binarupa Aksara.

- Litbang. 2011. RI Rangking Keempat Jumlah Penderita Diabetes Terbanyak Dunia. Tersedia pada www.pdpersi.co.id/content/news.php?catid=23&mid=5&nid=618. Diakses pada tanggal 16 Januari 2014.
- Manohar. V. S., Jayasree, K. K., Kishore, L., M. Rupa, Rohit, D., and N. Chandrasekhar. 2012. Evaluation of Hypoglycemic and Antihyperglycemic Effect of Freshly Prepared Aqueous Extract of *Moringa oleifera* Leaves in Normal and Diabetic Rabbits. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 4 (1):249-253.
- Nwanko, C. H., Nandy, B., and Nwanko, B. O. 2010. Factors Influencing Diabetes Management Outcome Among Patients Attending Government Health Facilities in South East, Nigeria. *International Journal of Tropical Medicine*, 5(2), 28-36.
- Suharmiati. 2003. Pengujian Bioaktivitas Anti Diabetes Mellitus Tumbuhan Obat. Badan Penelitian Pengembangan dan Kesehatan. Pusat Penelitian dan Pengembangan Pelayanan dan Teknologi Kesehatan. Departemen Kesehatan RI. Surabaya.
- Tende, J. A., I. Ezekiel, A. A. U. Dikko and A. D. T. Goji. 2011. *Br. J. Pharmacology Toxicol*, 2 (1), 1 – 4.
- Wilson, J. D. dan D. W. Daniel. 1981. *Textbook of Endocrinology* 7th Ed. WB. Saunders Company. USA:Philadelphia.
- Zada, A. 2009. Pengaruh Diet Rumput Laut *Eucheuma* sp. Terhadap Jumlah Eritrosit Tikus Wistar dengan Diabetes Aloksan. Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro: Semarang.